

氏名	王 福金
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学 術
学位授与番号	博甲第3668号
学位授与の日付	平成20年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Microflora associated with ensiling and aerobic stability of total mixed ration silage containing food by-products (食品副産物を多用した発酵混合飼料の保存性および好氣的安定性に関わる微生物叢に関する研究)
論文審査委員	准教授 西野 直樹 教授 佐藤 勝紀 教授 宮本 拓

学位論文内容の要旨

高含水率の食品副産物を流通可能なリサイクル飼料とするうえで、TMRサイレージ（発酵混合飼料）の調製は有効な選択のひとつである。この発酵飼料の特徴のひとつとして、開封後の好氣的安定性が非常に高いことが挙げられる。通常の牧草サイレージは開封後1-2日に変敗するが、TMRサイレージは1週間以上腐敗しない。本研究では、TMRサイレージの貯蔵性および好氣的安定性の変動要因を調べるとともに、それらに関わる微生物フローラを明らかにすることを目的とした。

まず、ビール粕を主原料とするTMRサイレージを調製し、組み合わせる原料の数と種類ならびに貯蔵初期の残存空気による変化を調べた。嫌気条件におけるサイレージ発酵が腐敗防止に必須であり、十分な好氣的安定性を確保するには2ヶ月程度の貯蔵が望ましいことが明らかとなった。短期間の貯蔵では変敗するものがあったが、マメ科材料の配合、貯蔵初期の嫌気性の確保、高タンパク質（140 gkg⁻¹DM以上）材料の使用などによって、それらを防止できることも示された。また、牧草サイレージで得られた知見と異なり、TMRサイレージは開封時の酵母数が10⁵ cfu g⁻¹以上でも変敗せず、その一方で、長期間貯蔵すると酵母が検出されなくなることが示された。非解離型有機酸がこれらの変化に関わっていると考えられたが、そのみで好氣的安定性を説明することはできなかった。

続いて、トウフ粕を主原料に加えてTMRサイレージを調製し、発酵特性および好氣的安定性に関わる微生物の群集解析を行った。TMR材料およびTMRサイレージには多様な乳酸菌が検出され、変敗の有無あるいはしやすさとの関係から *Weissella spp.* と *Lactobacillus brevis* が候補細菌と考えられた。*Lactobacillus buchneri* はビール粕を含むTMRサイレージには共通していたが、トウフ粕を含むTMRサイレージには検出されなかった。このDGGE解析で同定された乳酸菌は、TMR材料およびTMRサイレージからすべて培養可能な細菌として分離できた。しかし、トウモロコシサイレージへの添加実験を行ったところ、*Weissella spp.* と *L. brevis* の変敗防止能は認められず、*L. buchneri* だけが強く好氣的変敗を抑制した。

最後に、好氣的安定性の有用性をヤギへの給与試験で確認した。トウフ粕を含むTMRサイレージはビール粕を含むものより採食量が低かったが、タンパク質およびNDF消化率は逆に高かった。空気に曝したTMRサイレージは開封直後のものと同程度の採取量を示したが、トウフ粕を含むものでは低下する傾向が見られた。すなわち、TMRサイレージは高い好氣的安定性を示すが、動物が摂取できる栄養成分は開封後減少すると考えられた。

上記の実験から、TMRサイレージの製造および利用に関する実用的な留意事項が示されるとともに、好氣的安定性に関わる微生物因子として *L. buchneri* などの乳酸菌群が明らかとなった。

論文審査結果の要旨

本研究は、食品副産物を多用したTMRサイレージ（発酵混合飼料）の好氣的安定性に関わる微生物因子の解明を試みたものである。TMRサイレージは我が国特有の飼料利用形態であるが、開封後きわめて変敗しにくいという特徴をもつ。この変敗抑制因子を明らかにして、他の貯蔵飼料に応用することを目的とした。得られた結果は以下の通りである。

牧草サイレージと異なり、TMRサイレージは開封時に 10^5 cfu g^{-1} 以上の酵母が生残しても変敗しなかった。貯蔵期間を延長すると酵母が検出されなくなることや、抗菌性の非解離型有機酸が高濃度で生成するという特徴も示された。発酵させなければ容易に変敗したことから、貯蔵過程で生育する微生物叢に変敗抑制因子があると考えられた。

混合飼料の材料や貯蔵期間を変えて様々な好氣的安定性を示すTMRサイレージを調製し、それらの微生物群集をPCR-DGGEあるいは優勢菌の分離・培養によって解析した。PCR-DGGEによって *Weissella* spp. と *Lactobacillus brevis* の関与が示されるとともに、培養法による解析から *L. brevis*、*Lactobacillus buchneri* および *Pediococcus acidilactici* の関与が示唆された。これらの変敗防止能を確認するためトウモロコシサイレージへの添加実験を行ったところ、*L. buchneri* と *P. acidilactici* にその効果が認められた。*Weissella* spp. と *L. brevis* は変敗を抑制しなかったが、単独ではなく複合添加での検討が必要と考えられた。

好氣的安定性の有用性を給与試験で検証したところ、開封後1週間空気にさらしてもヤギの自由摂取量は低下しないことが示された。すなわち、TMRサイレージの好氣的安定性は、実用的に高い価値を有することが確認された。

これらの知見は、食品副産物の高度利用だけでなく、牧草サイレージの変敗防止技術を確立するうえできわめて重要である。微生物の関与を群集解析でアプローチした点も高く評価できるため、王 福金氏は自然科学研究科の博士（学術）の学位を受ける資格があるものと判断した。